

学校编码: 10384
学号: 24520091153062

分类号 _____ 密级 _____
UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

多聚唾液酸和三聚唾液酸在肺癌、乳腺癌、
胃癌和肠癌中的表达及其意义

The Expression and Significance of Polysialic Acid and
Trisialic Acid in Lung Cancer, Breast Cancer, Stomach
Cancer and Intestinal Cancer

易 珊

指导教师姓名: 王 冰 教授

F.A.Troy 教授

专 业 名 称: 肿 瘤 学

论文提交日期: 2012 年 月

论文答辩时间: 2012 年 月

学位授予日期: 2012 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2012 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 2013 年 12 月 31 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

摘 要

多聚唾液酸(Poly-sia)是以 $\alpha 2, 8$ 键连接唾液酸残基而形成的线性均一多聚的碳水化合物, 在细胞间黏附、细胞迁移以及神经发育中发挥了重要的作用, 研究表明 PolySia 的表达与某些癌症的恶性程度、浸润、转移相关, 认为其可作为某些癌症判断预后的临床标志物, 但目前尚缺乏其与胃癌、肠癌, 乳腺癌的病理关系。三聚唾液酸 (TriSia) 是含有三个唾液酸残基的线性糖链, 主要黏附于神经节苷脂和蛋白质上, 由于缺少识别糖蛋白上 TriSia 的抗体, TriSia 的合成和功能及其作用机制都尚属未知, 其在肿瘤中的表达及其意义尚未见报道。本研究采用 western blot 的方法来检测 93 例肺癌, 52 例乳腺癌, 38 例胃癌和 72 例肠癌病人的癌组织和淋巴结组织的 PolySia 和 TriSia 的表达特点和差异, 探讨其在这四种肿瘤中的意义。

结果显示肺癌、乳腺癌、胃癌、肠癌组织中的 PolySia 黏附在分子量为 140kDa 和 120kDa 的 NCAM 亚体上且以前者为主。TriSia 所黏附的复合物在 80kDa、130kDa 和 170kDa 的分子量上均有表达, 但主要以后两者的表达为主。肺癌、乳腺癌、胃癌和肠癌四种癌症中, PolySia 在其癌组织中的阳性表达率分别为 81.72%, 63.46%, 81.58 和 81.94%, 其在淋巴结组织中的阳性表达率分别为 93.55%, 66.67%, 81.25%和 73.33%; TriSia 在其癌症组织中的阳性表达率为 74.19%, 67.31%, 86.84%和 87.50%, 而其在淋巴结组织中阳性表达率分别为 79.03%, 66.67%, 68.75%和 73.33%。

通过这些研究结果我们可得到以下结论: 一、PolySia 在所研究的四种癌症中均有较高的阳性表达率, 提示 PolySia 可能为其相应临床筛查的肿瘤标志物, 从高到低依次为: 肠癌、肺癌、胃癌和乳腺癌。PolySia 在淋巴结中的表达不同于癌组织, 其阳性表达率为肺癌>胃癌>肠癌>乳腺癌。在同种癌症中, PolySia 在肿瘤组织和淋巴结组织的阳性表达率的一致性有所不同, 其中肺癌差别最大, 表现为淋巴结组织高于肿瘤组织。在检测组织中 PolySia 表达的灵敏度时, 对于肺癌和乳腺癌, 检测淋巴结中的 PolySia 灵敏度较高, 尤其是肺癌, 在胃癌中癌组织和淋巴结检测 PolySia 的灵敏度较为一致, 肠癌中则检测癌组织中的 PolySia

表达更为灵敏。二、TriSia 在所检测的四种癌组织中也有较高的阳性表达率，这也使其可能成为这四种癌症临床检测的肿瘤标志物。但与 PolySia 不同，TriSia 在所检测的癌组织的阳性表达率由高到低依次为：肠癌、胃癌、肺癌和乳腺癌，且肠癌和胃癌这两种消化道肿瘤癌组织中的 TriSia 阳性表达率较为接近。而在淋巴结组织中，TriSia 阳性表达率由高到低依次为：肺癌、肠癌、胃癌和乳腺癌。另外，胃癌、肠癌和乳腺癌中癌组织 TriSia 的阳性表达率均高于相对应的淋巴结组织，因此对 TriSia 的检测在癌组织中灵敏度较高，而肺癌反之。三、同种组织中 PolySia 和 TriSia 的表达也不相同。癌组织中，肺癌 PolySia 阳性表达率高于 TriSia，但其余三种癌症差别较小。淋巴结组织中，对于乳腺癌和肠癌，PolySia 和 TriSia 的阳性表达率较一致，而对于肺癌和胃癌 PolySia 阳性表达率均高于 TriSia 且差别较大。说明乳腺癌、胃癌和肠癌的癌组织中检测 TriSia 的灵敏度略高于 PolySia，在肺癌癌组织，肺癌淋巴结和胃癌淋巴结中，检测 PolySia 的灵敏度均高于 TriSia。四、PolySia 和 TriSia 与肺癌、乳腺癌、胃癌和肠癌的分化程度和有无淋巴结转移均无显著性关联。五、Western blot 对多聚唾液酸的检测具有较高的灵敏度，可以成为通过对 PolySia 的检测进行肿瘤筛查的有效手段。

关键词：多聚唾液酸；三聚唾液酸；肿瘤

Abstract

Polysialic acid (PolySia) is a carbohydrate which composes of a linear homopolymer of α -2, 8-linked sialic acid residues and plays important roles in intercellular adhesion, cell migration, formation and remodeling of the neural system through regulating adhesive property of NCAM. PolySia has been reported to be correlated with tumor progression, invasion and metastasis. The PolySia can be a clinical marker in the diagnosis/prognostic of some cancers. The α 2, 8 TriSia structure has recently been shown by C. Sato and her colleagues for the first time to reside on four glycoproteins expressed in a developmental stage-dependent manner in mouse brain. The exact function of the TriSia glycoproteins is unknown yet, but has been implicated in oligodendrocyte differentiation, similar to the function of the TriSia structure on gangliosides.

The present study assesses the PolySia and TriSia expression in tumor tissue and lymph node of 93 lung cancer patients, 52 breast cancer patients, 38 stomach cancer and 72 intestinal cancer patients, that detected by western blot. The results shows PolySia carried by 140 and 120 kDa NCAM isoforms in lung, breast, stomach and intestinal cancer, mainly attaches to the 140 kDa isoform. The glycotopes of TriSia expressed in these patients are 80kDa, 130 and 170kDa, different from which expressed in 0 day mouse brain.

The results of lung cancer, breast cancer, stomach cancer, intestinal cancer shows PolySia positive rates expressed in tumor tissue are 81.72%, 63.46%, 81.58 and 81.94%, while in lymph nodes are 93.55%, 66.67%, 81.25% and 73.33%. TriSia positive rates expressed in tumor tissue are 74.19%, 67.31%, 86.84% and 87.50%; and in lymph nodes the positive rates are 79.03%, 66.67%, 68.75% and 73.33% .

These results indicated that: (1) The unexpectedly high percentages of lung cancer, breast cancer, stomach cancer and intestinal cancer are found to positively express PolySia, suggesting that PolySia may be a potentially novel diagnostic and prognostic

biomarker for cancer screening. The PolySia positive rates' descending order is as follows: colorectal cancer, lung cancer, stomach cancer intestinal cancer, but in lymph nodes it is different, the order is lung cancer > stomach cancer > intestinal cancer > breast cancer. In the same type of cancer, The consistency of the PolySia positive expression rate in tumor tissue and lymph node tissue is different, in which lung cancer is of the biggest difference, the positive rate in lymph nodes is much higher than which in tumor tissues. (2) Trisialic acid also has high positive rates in lung cancer, breast cancer, stomach cancer and intestinal cancer. But different from PolySialic acid, Trisialic acid positive rate in the detected in tumor tissues are of a descending order as follows: intestinal cancer, stomach cancer, lung cancer and breast cancer, and the positive rate in intestinal cancer and stomach cancer is closer than others. In the lymph node tissue, Trisialic acid positive rates' descending order is: lung cancer, intestinal cancer, stomach cancer and breast cancer. In addition, the Trisialic acid positive expression rates of stomach cancer, intestinal cancer and breast cancer tumor tissues are higher than that in the corresponding lymph node tissue, but in lung cancer it is the contrary. Therefore, it will be important to determine the function of these tumor-associated trisialated glycoproteins. (3) PolySialic acid and Trisialic acid are not expressed in the same positive rate in the same type of tissue, in tumor tissues, lung cancer PolySialic acid positive rate is higher than Trisialic acid, but the rest three types of cancer positive rates of the two glycotopes are close. In lymph node tissues, breast and intestinal cancers' positive rates of PolySialic acid and Trisialic acid are more consistent than which in lung cancer and stomach cancer. (4) The statistical analysis show no significant of the difference in PolySialic acid and Trisialic acid positive rate between the different differentiation degree and lymph node metastasis of the detected cancer, indicates that there is no association between PolySialic acid /Trisialic acid expression and the different differentiation degree/lymph node metastasis. (5) Western blot may be of higher sensitivity for PolySialic acid detection. And therefore we suggest that using western blot to detect PolySialic acid to screening of the tumor.

Key word: Polysialic Acid; Trisialic Acid; Tumor.

目 录

摘 要	I
ABSTRACT	III
目 录	V
CONTENTS	VIII
缩略词表	XI
第 1 章 前 言	1
1.1 多聚唾液酸和三聚唾液酸的结构	1
1.1.1 多聚唾液酸的结构	2
1.1.2 三聚唾液酸的结构	3
1.2 多聚唾液酸和三聚唾液酸的生物合成	4
1.2.1 $\alpha 2, 8$ 唾液酸转移酶家族	4
1.2.2 多聚唾液酸和三聚唾液酸的合成	5
1.3 多聚唾液酸与三聚唾液酸的表达及其功能	6
1.3.1 多聚唾液酸的表达	6
1.3.2 三聚唾液酸的表达及其功能	7
1.4 多聚唾液酸和多聚唾液酸转移酶在肿瘤中的表达的研究现状和意义	7
1.4.1 小细胞肺癌与非小细胞癌	8
1.4.2 成神经细胞瘤	8
1.4.3 神经胶质瘤	9
1.4.4 横纹肌肉瘤, 枯萎瘤	9
1.4.5 垂体瘤	9
1.5 肺癌、乳腺癌、胃癌和肠癌标志物的研究进展	10
1.5.1 肺癌标志物的研究进展	10

1.5.2 乳腺癌标志物的研究进展	10
1.5.3 胃癌的标志物的研究进展	11
1.5.4 肠癌标志物的研究进展	12
1.6 本论文的目的、研究内容和意义	12
第 2 章 材料与方法	14
2.1 材料	14
2.1.1 肺癌组织标本	14
2.1.2 乳腺癌组织标本	14
2.1.3 胃癌组织标本	16
2.1.4 肠癌组织标本	17
2.1.5 主要试剂及耗材	18
2.1.6 主要仪器及设备	20
2.1.7 常用缓冲液的配制	21
2.2 方法	23
2.2.1 蛋白提取	23
2.2.2 测定蛋白浓度	24
2.2.3 酶切反应和蛋白变性	24
2.2.4 Western blot	25
2.2.5 阳性结果的判定标准	26
2.4 数据处理	27
第 3 章 结果与分析	28
3.1 肺癌结果与分析	28
3.1.1 肺癌和淋巴结组织中 PolySia 和 TriSia 的表达情况	28
3.1.2 不同分化程度的肺癌中 PolySia 的表达情况	30
3.1.3 小细胞肺癌与非小细胞肺癌中 PolySia 和 TriSia 的表达情况	31
3.1.4 PolySia 和 TriSia 的表达与肺癌有无淋巴结转移的关系分析	32
3.2 乳腺癌结果与分析	33
3.2.1 乳腺癌组织和淋巴结组织中 PolySia 和 TriSia 的表达情况	34
3.2.2 PolySia 和 TriSia 表达与乳腺癌有无淋巴结转移的关系分析	35

3.3 胃癌结果与分析	36
3.3.1 胃癌和淋巴结组织中 PolySia 和 TriSia 的表达情况	36
3.3.2 不同分化程度的胃癌中 PolySia 的表达情况	38
3.3.3 PolySia 和 TriSia 的表达与胃癌有无淋巴结转移的关系分析	40
3.4 肠癌结果与分析	41
3.4.1 肠癌和淋巴结组织中 PolySia 和 TriSia 的表达情况	41
3.4.2 不同分化程度的肠癌中 PolySia 的表达情况	43
3.4.3 PolySia 和 TriSia 的表达与肠癌有无淋巴结转移的关系分析	44
第 4 章 讨论与结论	46
参考文献	54
致 谢	58

Contents

CHINESE ABSTRACT	I
ENGLISH ABSTRACT	III
Abbreviations	XI
1 INTRODUCTION	错误！未定义书签。
1.1 Structure Of Polysia And Trisia	错误！未定义书签。
1.1.1 Structure Of Polysia	错误！未定义书签。
1.1.2 Structure Of Trisia	错误！未定义书签。
1.2 Biosynthesis Of Polysia And Trisia	错误！未定义书签。
1.2.1 The A2, 8 Sialyltransferases	错误！未定义书签。
1.2.2 Biosynthesis Of Polysia And Trisia	错误！未定义书签。
1.3 Expression And Function Of Polysia And Trisia	错误！未定义书签。
1.3.1 Expression And Function Of Polysia	错误！未定义书签。
1.3.2 Expression And Function Of Trisia	错误！未定义书签。
1.4 Polysia And Polysialyltransferases Expression In Tumor	错误！未定义书签。
1.4.1 SCLC And NSCLC	错误！未定义书签。
1.4.2 Neuroblastoma	错误！未定义书签。
1.4.3 Glioma	错误！未定义书签。
1.4.4 Rhabdomyosarcoma	错误！未定义书签。
1.4.5 Hypophysoma	错误！未定义书签。
1.5 Research About Markers Of Lung ,Breast, Stomach And Intestinal Cancer	错误！未定义书签。
1.5.1 Research About Markers Of Lung Cancer	错误！未定义书签。
1.5.2 Research About Markers Of Breast Cancer	错误！未定义书签。
1.5.3 Research About Markers Of Stomach Cancer	错误！未定义书签。

1.5.4 Research About Markers Of Intestinal Cancer	错误！未定义书签。
1.6 Contens Purpose And Significance	错误！未定义书签。
2 MATERIALS AND METHODS	错误！未定义书签。
2.1 Materials	错误！未定义书签。
2.1.1 Patients And Tissue Samples Of Lung Cancer	错误！未定义书签。
2.1.2 Patients And Tissue Samples Of Breast Cancer	错误！未定义书签。
2.1.3 Patients And Tissue Samples Of Stomach Cancer	错误！未定义书签。
2.1.4 Patients And Tissue Samples Of Intestinal Cancer	错误！未定义书签。
2.1.5 Regents	错误！未定义书签。
2.1.6 Main Instruments	错误！未定义书签。
2.1.7 Primary Solutions And Buffer	错误！未定义书签。
2.2 Methods	错误！未定义书签。
2.2.1 Homogenizayion Of Tissue And Extraction Of Protein	错误！未定义书签。
2.2.2 Mesuring The Protein Concentration	错误！未定义书签。
2.2.3 Enzyme Reaction And Albuminous	错误！未定义书签。
2.2.4 Western Blot	错误！未定义书签。
2.2.5 Standard Of Positive Expression	错误！未定义书签。
2.4 Statistical Methods	错误！未定义书签。
3 RESULTS AND ANALYSIS	错误！未定义书签。
3.1 Resut And Analysis Of Lung Cancer	错误！未定义书签。
3.1.1 Expression Of Polysia And Trisia In Tumor Tissue And Lymph Node In Lung Cancer	错误！未定义书签。
3.1.2 Expression Of Polysia And Trisia According To Histology In Lung Cancer	错误！未定义书签。
3.1.3 Expression Of Polysia And Trisia According To Scle And Nscle	错误！未定义书签。
3.1.4 Expression Of Polysia And Trisia According To Nodal Mestastasis In Lung Cancer	错误！未定义书签。
3.2 Resut And Analysis Of Breast Cancer	错误！未定义书签。

3.2.1 Expression Of Polysia And Trisia In Tumor Tissue And Lymph Node In Breast Cancer	错误！未定义书签。
3.2.2 Expression Of Polysia And Trisia According To Nodal Mestastasis Inbreast Cancer	错误！未定义书签。
3.3 Resut And Analysis Of Stomach Cancer	错误！未定义书签。
3.3.1 Expression Of Polysia And Trisia In Tumor Tissue And Lymph Node In Stomach Cancer	错误！未定义书签。
3.3.2 Expression Of Polysia And Trisia According To Histology In Stomach Cancer	错误！未定义书签。
3.3.3 Expression Of Polysia And Trisia According To Nodal Mestastasis In Stomach Cancer	错误！未定义书签。
3.4 Resut And Analysis Of Intestinal Cancer	错误！未定义书签。
3.4.1 Expression Of Polysia And Trisia In Tumor Tissue And Lymph Node In Intestinal Cancer	错误！未定义书签。
3.4.2 Expression Of Polysia And Trisia According To Histology In Intestinal Cancer	错误！未定义书签。
3.4.3 Expression Of Polysia And Trisia According To Nodal Mestastasis In Intestinal Cancer	错误！未定义书签。
4 DISCUSSION AND CONCLUSION	错误！未定义书签。
REFERENCES	错误！未定义书签。
ACKNOWLEDGEMENT	58

厦门大学博硕士论文摘要库

缩略词表

PolySia	PolySialic acid PolySia 多聚唾液酸
TriSia	Trisialic acid 三聚唾液酸
NCAM	neural cell adhesion molecule 神经细胞黏附因子
Endo-N	endo-N-acetylneuraminidase
polyST	Polysialyltransferases 多聚唾液酸转移酶
monoSTs	Monosialyltransferases 单唾液酸转移酶
ST8SIAII	ST8Sia II, ST8 α -N-acetylneuraminide α -2,8-sialyltransferase II 多聚唾液酸转移酶 II
ST8SIAIV	ST8Sia IV, ST8 α -N-acetylneuraminide α -2,8-sialyltransferase IV 多聚唾液酸转移酶 IV
APS	Ammonium Persulfate 过硫酸铵
DTT	Dithiothreitol 二硫苏糖醇
SDS	Sodium dodecyl sulfate 十二烷基磺酸钠
TEMED	N N N' N'-tetramethylethylenediamine N N N' N'-四甲基二乙胺
Tris	Hydroxymethyl aminomethane 三羟基甲基氨基甲烷
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid 乙二胺四乙酸
SDS-PAGE	Sodium decdecyl sulfsate-polyacrylamide gel electrophoresis 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳
SCLC	Small cell lung cancer 小细胞肺癌
NCSLC	Non small cell lung cancer 非小细胞肺癌

第 1 章 前言

唾液酸 (Sialic acid, sia) 是一类羧化 9 碳糖, 有近 50 个家族成员, 主要是 Neu5Ac, Neu5Gc 以及 KDN 的派生物。唾液酸通常位于细胞膜上糖复合物的最外侧, 是许多糖复合物如糖脂、糖蛋白等的关键组成部分。聚唾液酸是指 Sia 以寡聚 (3~10) 或多聚 (>10) 的方式相互连接成为的糖链, 这些糖链的长短不一, 可含有 3 至 400 个唾液酸残基。本文主要对聚唾液酸中的多聚唾液酸和三聚唾液酸与肿瘤的关系进行研究。

多聚唾液酸是以 $\alpha 2, 8$ 键连接唾液酸残基形成的线性均一多聚的碳水化合物, 其在哺乳动物中的表达方式主要附着在神经细胞黏附分子 (neural cell adhesion molecule, NCAM) 上, 形成 PolySia-NCAM 复合物, 该复合物上的多聚唾液酸链可通过其亲水性, 负电荷性和空间位阻效应产生抗黏附作用而调节细胞间通讯^[1]。这种作用机制在生命发育早期时调节细胞间黏附、细胞迁移、神经发育和重塑过程中发挥关键作用^[2]。然而正常成人组织中的 NCAM 一般没有多聚唾液酸表达, 但研究发现在一些肿瘤组织中存在多聚唾液酸的再表达, 其促进癌细胞的分离、浸润和远端转移, 且使癌细胞出现向脑部转移的倾向^[3]。目前研究证明 NCAM 的多聚唾液酸化是由唾液酸转移酶 (sialyltransferase) ST8Sia II (STX) 和 ST8Sia IV (PST) 催化完成的^[4]。

三聚唾液酸是含有三个唾液酸残基的糖链, 一般以 $\alpha 2, 8$ 键结合, 主要黏附在神经节苷脂 (一类含有唾液酸残基的鞘糖脂) 或糖蛋白上, 然而由于缺乏识别糖蛋白上的三聚唾液酸链的抗体, 目前关于三聚唾液酸的合成及其功能的研究还较少, 因此其合成和功能暂时处于未知状态。目前研究三聚唾液酸可能是由唾液酸转移酶 ST8SiaIII 催化完成的^[5]。迄今尚未发现三聚唾液酸在肿瘤中表达的相关研究。

1.1 多聚唾液酸和三聚唾液酸的结构

唾液酸 (Sialic acid, sia) 是羧基化单糖酰化衍生物的总称, 有近 50 个家族成员, 它们都是 Neu5Ac, Neu5Gc 以及 KDN (图 1.1) 的派生物, 是许多糖复合

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库